

REVENDICATIONS

1. Bactéries du type *Alteromonas*, productrices  
5 de polysaccharides, caractérisées en ce qu'elles se  
distinguent de *Alteromonas macleodi* en ce qu'elles :  
- assimilent les substrats suivants : succinate  
et D-ribose ,  
- n'assimilent pas les substrats suivants : DL-  
10 glycé-rate, caprate, pyruvate , N-acétylglucosamine,  
DL-lactate, D-mannitol, D-xylose, n-propanol et L-  
sérine.

2. Bactéries selon la revendication 1,  
caractérisées en ce qu'elles se distinguent de *A.*  
15 *colwellii* par le fait que :  
- leur temps de génération à 25°C et sur milieu  
Marine Broth est inférieur au moins de moitié à celui  
de *A. colwellii*,  
- répondent négativement aux tests indole et  
20 nitrate réductase et positivement au test  $\beta$ -  
galactosidase (ONPG),  
- produisent une acidification en culture en  
présence d'un des substrats suivants : arbutine,  
tréhalose, saccharose, cellobiose et mannose.

25 3. Bactéries selon l'une des revendications 1  
et 2 , caractérisées en ce qu'elles se distinguent de  
*Alteromonas vaga* en ce qu'elles:  
- ont une croissance à 40°C  
- sont productrices d'amylase, de gélatinase et  
30 de lipase  
- assimilent les substrats suivants : saccharose  
, mélibiose, lactose, L-tyrosine, salicine et L-  
leucine,  
- n'assimilent pas les substrats suivants : N-  
35 acétylglucosamine, D-mannitol, citrate, sarcosine,  
putrescine, D-sorbitol, DL-malate,  $\alpha$ -céto-glutarate,

m-hydroxybenzoate, p-hydroxybenzoate, pyruvate, L-arabinose et D-arabinose.

4 . Bactéries selon l'une des revendications 1 à 3 , caractérisées en ce qu'elles produisent des polysaccharides contenant du galactose et présentant des rapports molaires par rapport à cet ose compris entre 0,6 et 1,2 pour le rhamnose, compris entre 1 et 2 pour le mannose, compris entre 1,1 et 1,5 pour le glucose, 10 compris entre 0,4 et 0,6 pour l'acide glucuronique, inférieur à 0,07 pour la N-acétyl galactosamine, et inférieur à 0,04 pour la N-acétyl glucosamine.

5 . Souche de bactérie selon la revendication 4 , caractérisée en ce qu'elle a été déposée sous le n° 15 I-1283 auprès de la CNCM .

6 . Bactéries selon l'une des revendications 1 à 3 , caractérisées en ce qu'elles produisent des polysaccharides contenant du galactose et présentant des rapports molaires par rapport à cet ose , 20 compris entre 0,2 et 1,4 pour le rhamnose, compris entre 0,1 et 0,4 pour le mannose, compris entre 3,3 et 10,2 pour le glucose, et compris entre 0,06 et 0,1 pour l'acide glucuronique.

7 . Souche de bactérie selon la revendication 6 , caractérisée en ce qu'elle a été déposée sous le n° 25 I-1287 auprès de la CNCM .

8 . Bactéries selon l'une des revendications 1 à 3, caractérisées en ce qu'elles produisent des polysaccharides contenant du galactose et présentant 30 des rapports molaires par rapport à cet ose compris entre 0,7 et 0,9 pour le glucose, compris entre 0,3 et 0,4 pour l'acide glucuronique, et compris entre 0,1 et 0,3 pour l'acide galacturonique.

9 . Souche de bactérie selon la revendication 8 , caractérisée en ce qu'elle a été déposée sous le n° 35

I-1282 auprès de la CNCM .

10. Bactéries selon l'une des revendications 1  
à 3 , caractérisées en ce qu'elles produisent des  
5 polysaccharides contenant du galactose et présentant  
des rapports molaires par rapport à cet ose  
compris entre 0,3 et 0,5 pour le rhamnose,  
compris entre 0,4 et 0,6 pour le mannose  
compris entre 1 et 1,8 pour le glucose  
compris entre 0,4 et 0,6 pour l'acide glucuronique,  
10 compris entre 0,1 et 0,3 pour l'acide galacturonique.

11. Souche de bactérie selon la revendication  
10 , caractérisée en ce qu'elle a été déposée sous le  
n° I-1284 auprès de la CNCM.

12. Bactéries selon l'une des revendications 1  
15 à 3 , caractérisées en ce qu'elles produisent des  
polysaccharides contenant du galactose et présentant  
des rapports molaires par rapport à cet ose  
compris entre 0,2 et 0,3 pour le rhamnose,  
compris entre 0,2 et 0,4 pour le mannose  
20 compris entre 0,5 et 1,1 pour le glucose  
compris entre 0,1 et 0,3 pour l'acide glucuronique, et  
compris entre 0,1 et 0,3 pour l'acide galacturonique.

13. Souche de bactérie selon la revendication  
12 , caractérisée en ce qu'elle a été déposée sous le  
25 n° I-1285 auprès de la CNCM .

14. Bactéries selon l'une des revendications 1  
à 3 , caractérisées en ce qu'elles produisent des  
polysaccharides contenant du galactose et présentant  
des rapports molaires par rapport à cet ose  
30 compris entre 0,9 et 1,1 pour le mannose, et  
compris entre 0,9 et 1,1 pour le glucose.

15. Souche de bactérie selon la revendication  
14 , caractérisée en ce qu'elle a été déposée sous le  
n° I-1286 auprès de la CNCM.

35 16. Produits issus d'une bactérie ou d'une

souche de bactérie selon l'une quelconque des revendications 1 à 15.

17. Polysaccharides susceptibles d'être isolés à partir d'une bactérie ou d'une souche de bactérie 5 selon l'une quelconque des revendications 1 à 15.

18. Polysaccharide selon la revendication 17 , caractérisé en ce qu'il contient du galactose et présente

des rapports molaires par rapport à cet ose 10 compris entre 0,6 et 1,2 pour le rhamnose, compris entre 1 et 2 pour le mannose, compris entre 1,1 et 1,5 pour le glucose, et compris entre 0,4 et 0,6 pour l'acide glucuronique, inférieur à 0,07 pour la N-acétyl galactosamine, et 15 inférieur à 0,04 pour la N-acétyl glucosamine.

19. Polysaccharide selon la revendication 18 , caractérisé en ce qu'il est substitué par des groupements acétyle et/ou pyruvyle.

20. Polysaccharide selon l'une des revendications 18 et 19 , caractérisé en ce qu'il présente une masse inférieure à  $10^6$ D.

21. Polysaccharide selon la revendication 17 , caractérisé en ce qu'il contient du galactose et présente des rapports molaires par rapport à cet ose , 25 compris entre 0,2 et 1,4 pour le rhamnose, compris entre 0,1 et 0,4 pour le mannose, compris entre 3,3 et 10,2 pour le glucose, et compris entre 0,06 et 0,1 pour l'acide glucuronique.

22. Polysaccharide selon la revendication 21 , 30 caractérisé en ce qu'il est substitué par des groupements acétyle.

23. Polysaccharide selon l'une des revendications 21 et 22 , caractérisé en ce qu'il présente une masse de l'ordre de  $10^6$  D.

35 24. Polysaccharide selon la revendication 17 ,

caractérisé en ce qu'il contient du galactose et présente des rapports molaires par rapport à cet ose compris entre 0,7 et 0,9 pour le glucose, 5 compris entre 0,3 et 0,4 pour l'acide glucuronique, et compris entre 0,1 et 0,3 pour l'acide galacturonique.

25. Polysaccharide selon la revendication 24, caractérisé en ce qu'il comprend un acide hexuronique de structure furanique substitué sur son carbone en 10 position 3 par un résidu lactyle.

26. Polysaccharide selon la revendication 25, caractérisé en ce que le rapport molaire de l'acide hexuronique au galactose est compris entre 0,1 et 0,5.

27. Polysaccharide selon l'une des 15 revendications 25 et 26, caractérisé en ce qu'il présente une masse de l'ordre de  $4.10^6$  D.

28. Polysaccharide selon l'une des revendications 25 à 27, caractérisé en ce que les liaisons entre les oses sont réalisées sur le carbone 20 en position 4 du glucose, les carbones en positions 3, ou 4 et 6 du galactose et les carbones en positions 4 ou 3 de l'acide glucuronique.

29. Polysaccharide selon l'une des revendications 25 à 28, caractérisé en ce qu'il est 25 ramifié par l'intermédiaire d'un résidu galactose présentant des liaisons en positions 4 et 6.

30. Polysaccharide selon l'une des revendications 25 à 29, caractérisé en ce qu'il comprend des répétitions d'enchaînements constituées 30 de 3 galactoses, 1 glucose, 2 acides glucuroniques, 1 acide galacturonique et 1 acide hexuronique de structure furanique, substitué sur son carbone en position 3 par un résidu lactyle.

31. Polysaccharide selon l'une des 35 revendications 24 à 30, caractérisé en ce qu'il est

substitué par des groupements acétyle.

32. Polysaccharide selon la revendication 17, caractérisé en ce qu'il contient du galactose et présente des rapports molaires par rapport à cet ose

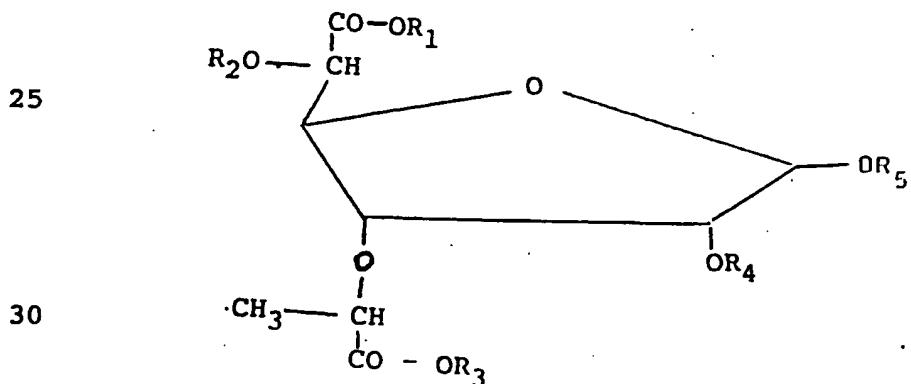
5      compris entre 0,2 et 0,3 pour le rhamnose, compris entre 0,2 et 0,4 pour le mannose compris entre 0,5 et 1,1 pour le glucose compris entre 0,1 et 0,3 pour l'acide glucuronique, et compris entre 0,1 et 0,3 pour l'acide galacturonique.

10      33. Polysaccharide selon la revendication 32 , caractérisé en ce qu'il contient un acide hexuronique substitué sur son carbone en position 3 par un résidu lactyle.

15      34. Polysaccharide selon l'une des revendications 32 et 33 , caractérisé en ce qu'il présente une masse comprise entre  $5.10^5$  et  $2.10^6$ D.

20      35. Polysaccharide selon la revendication 17 , caractérisé en ce qu'il contient du galactose et présente des rapports molaires par rapport à cet ose compris entre 0,9 et 1,1 pour le mannose, et compris entre 0,9 et 1,1 pour le glucose.

36. Hexose présentant la formule suivante :



35      dans laquelle R<sub>1</sub> à R<sub>4</sub> représentent chacun un atome d'hydrogène et OR<sub>5</sub> représente la liaison osidique avec les autres sucres.

37. Hexose selon la revendication 36 , caractérisé en ce qu'il est susceptible d'être compris dans le polysaccharide selon l'une des revendications 25 et 33.

5 38. Application des produits et polysaccharides selon l'une quelconque des revendications 16 à 35 pour le traitement de milieux contenant des ions métalliques, par exemple des ions calcium ou de métaux lourds ( plomb, cadmium et mercure ) ou de certains 10 radionucléides ( uranium, thorium), le milieu à traiter , avantageusement sous forme de solution ou de suspension, étant mis en présence avec une quantité efficace d'au moins un desdits produits ou polysaccharides après quoi on sépare de manière 15 conventionnelle le milieu épuré et le(s) polysaccharide(s) chargé(s) des ions métalliques à éliminer.

20 39. Application des produits et polysaccharides selon l'une quelconque des revendications 16 à 35 , à titre d'agents thérapeutiques ou de diagnostic , en particulier en raison de leurs pouvoirs anticoagulant et/ou antithrombotique, pour le traitement préventif ou curatif d'affections liées au sang et à la circulation sanguine.

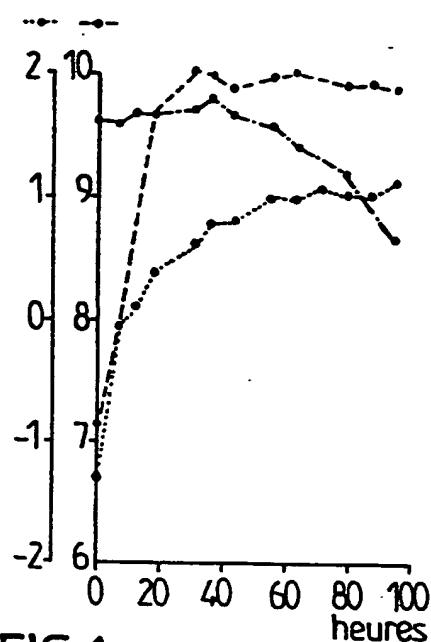


FIG.1 — U.F.C./ml  
— pH  
— Absorbance à 520 nm

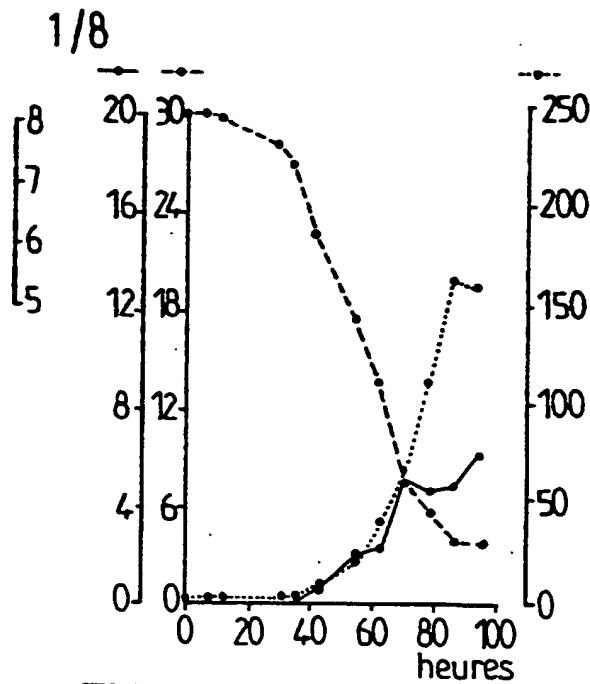


FIG.2 — Glucose (g/l)  
— Exopolysaccharide (g/l)  
— Viscosité (cP)

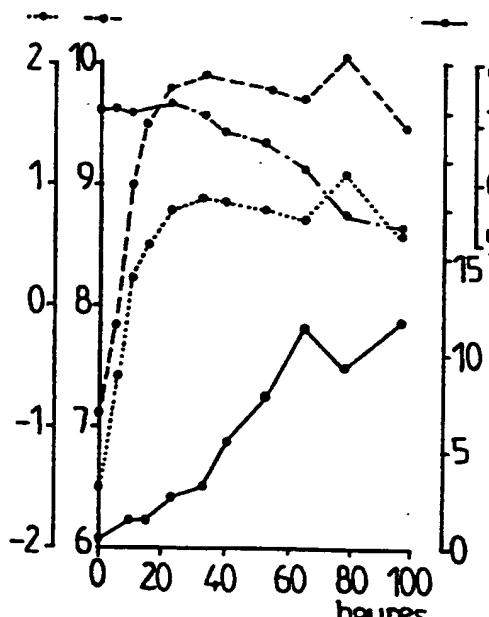


FIG.3 — U.F.C./ml  
— pH  
— Absorbance 520 nm  
— Biomasse (g/l)

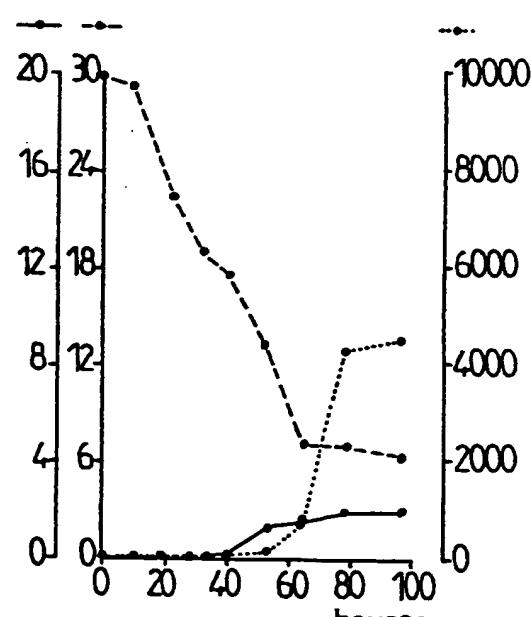


FIG.4 — Glucose (g/l)  
— Exopolysaccharide (g/l)  
— Viscosité (cP)

2/8

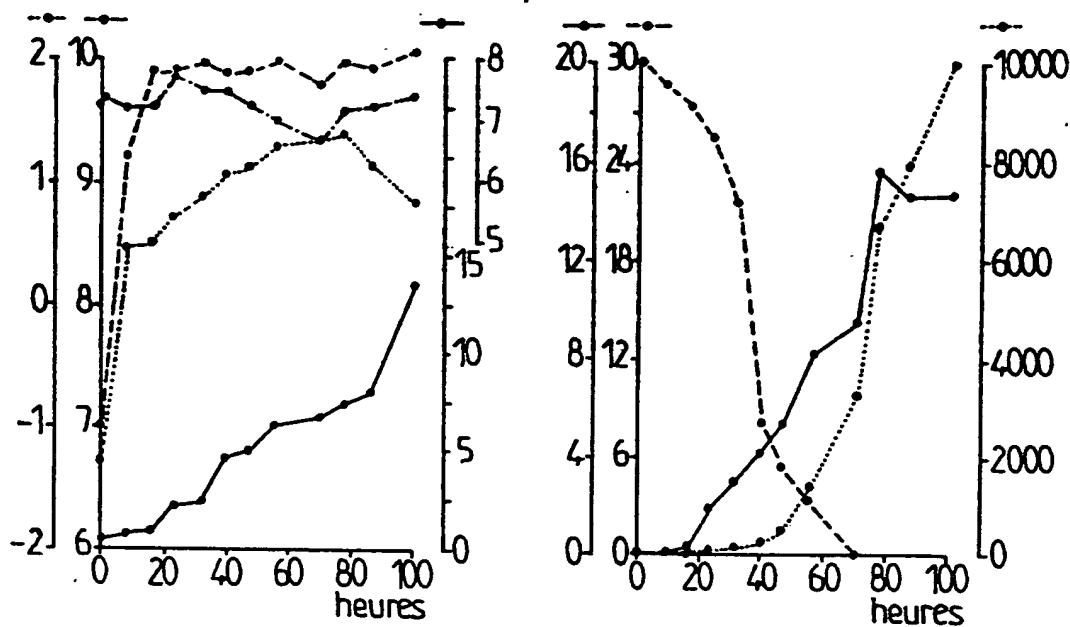


FIG.5  
 --- U.F.C. / ml  
 --- pH  
 ----- Absorbance à 520nm  
 — Biomasse (g/l)

FIG.6  
 --- Glucose (g/l)  
 — Exopolysaccharide (g/l)  
 ----- Viscosité (cP)

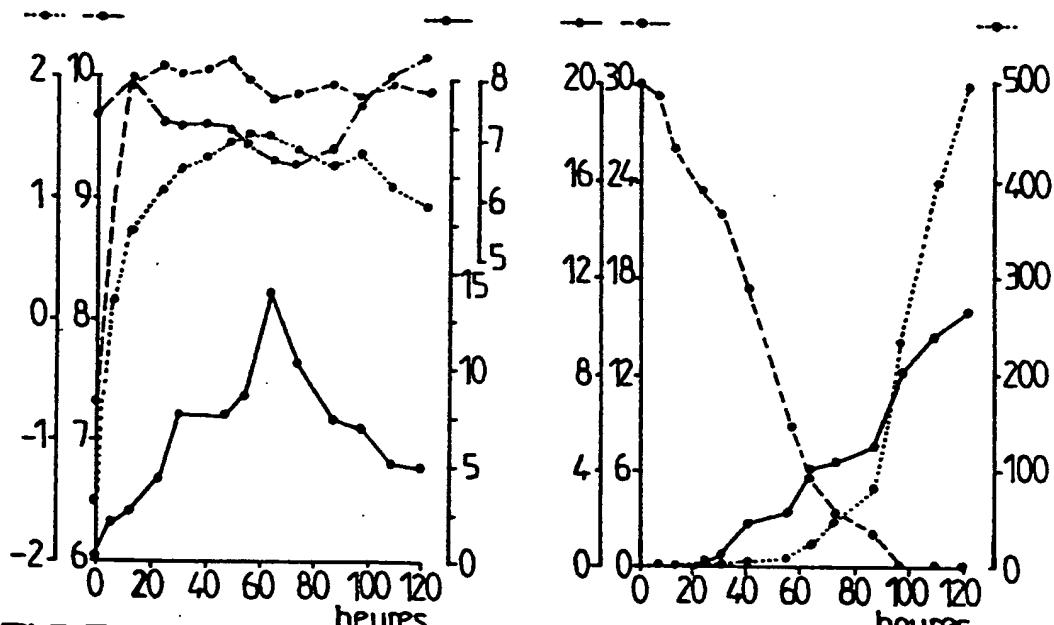


FIG.7  
 --- U.F.C. / ml  
 --- pH  
 ----- Absorbance à 520nm  
 — Biomasse (g/l)

FIG.8  
 --- Glucose (g/l)  
 — Exopolysaccharide (g/l)  
 ----- Viscosité (cP)

3/8

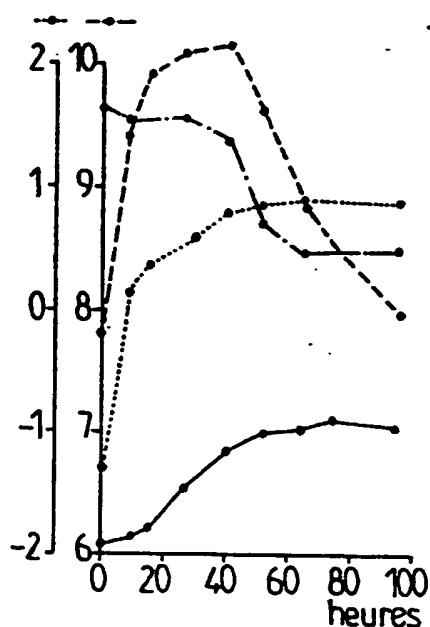


FIG.9  
 —— U.F.C. / ml  
 ----- pH  
 - - - - Absorbance à 520 nm  
 — Biomasse (g/l)

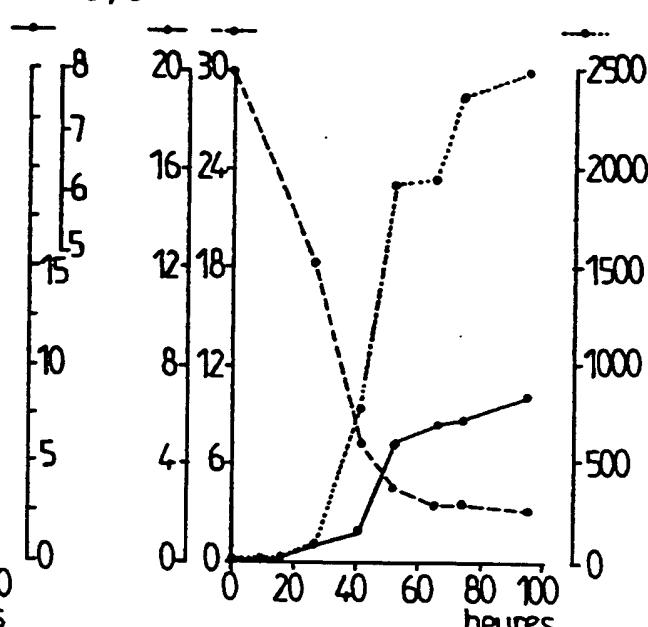


FIG.10  
 ----- Glucose (g/l)  
 — Exopolysaccharide (g/l)  
 - - - - Viscosité (cP)

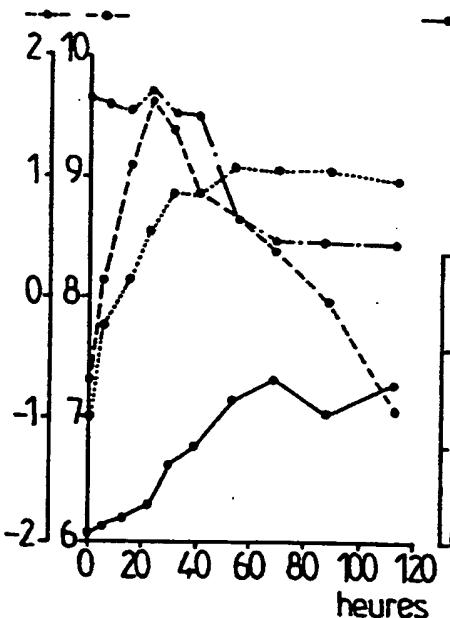


FIG.11  
 —— U.F.C. / ml  
 ----- pH  
 - - - - Absorbance à 520 nm  
 — Biomasse (g/l)

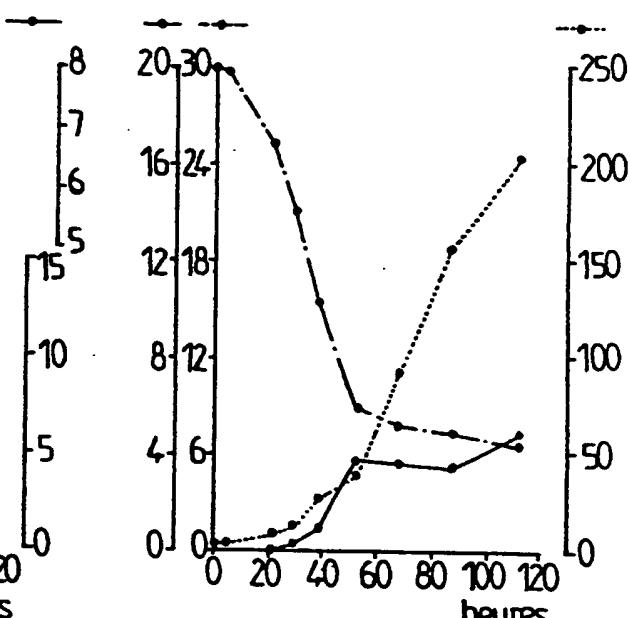


FIG.12  
 ----- Glucose (g/l)  
 — Exopolysaccharide (g/l)  
 - - - - Viscosité (cP)

4/8

FIG.13A

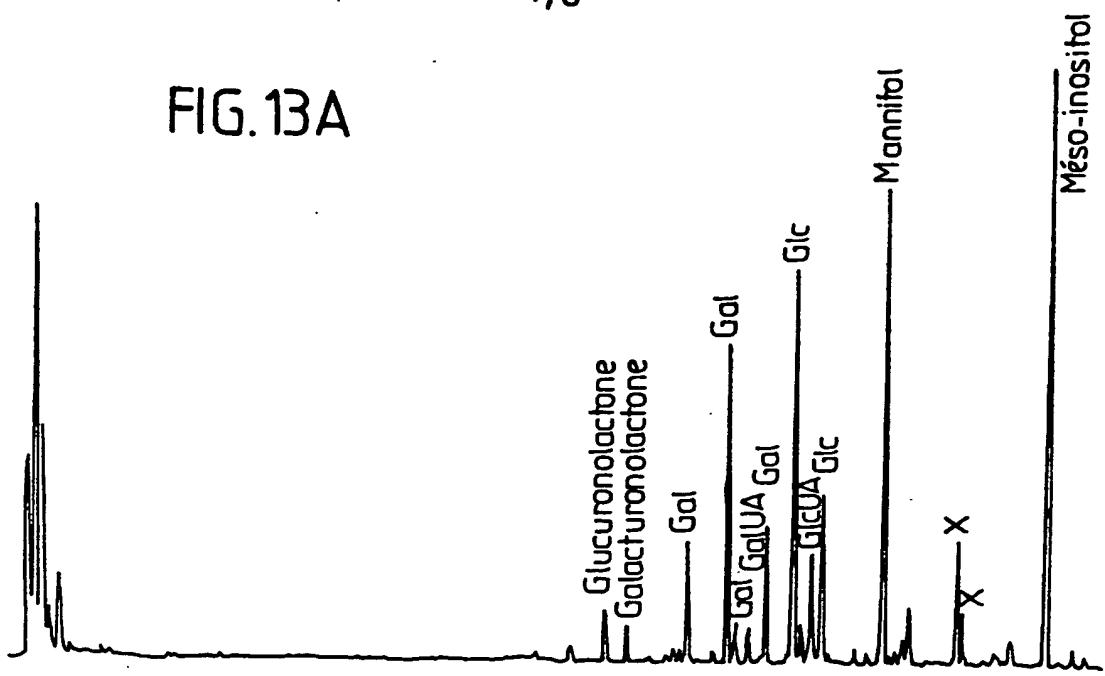
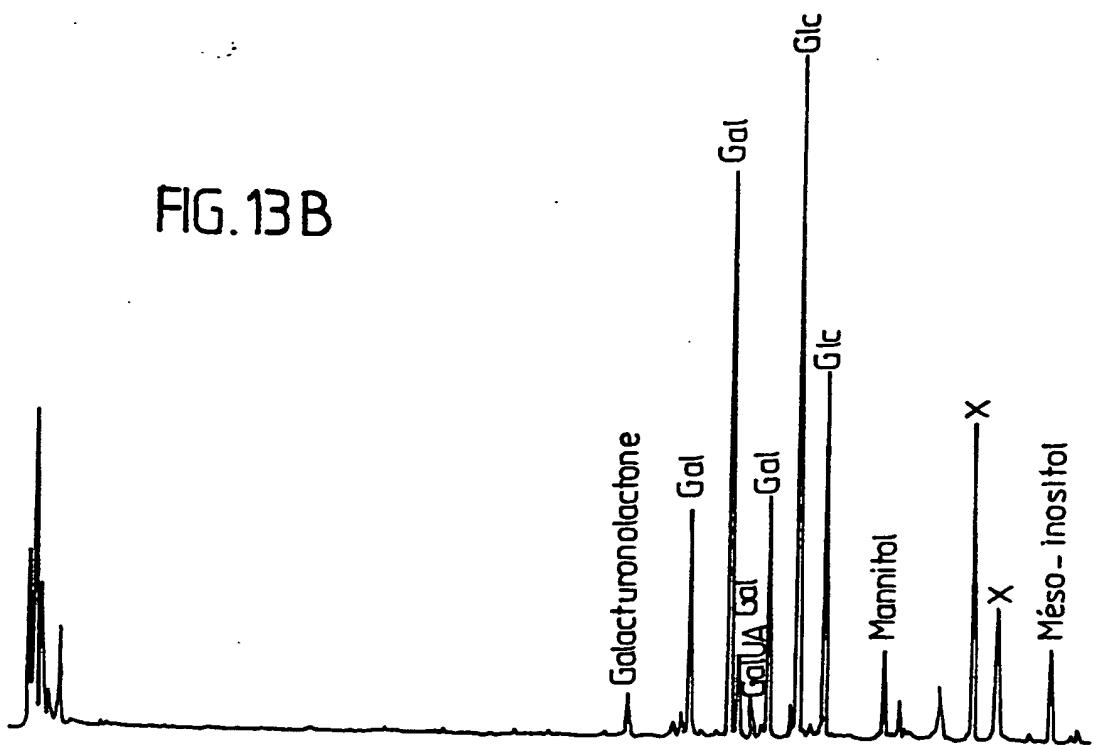


FIG.13B



FEUILLE DE REMplacement (REGLE 26)

5/8

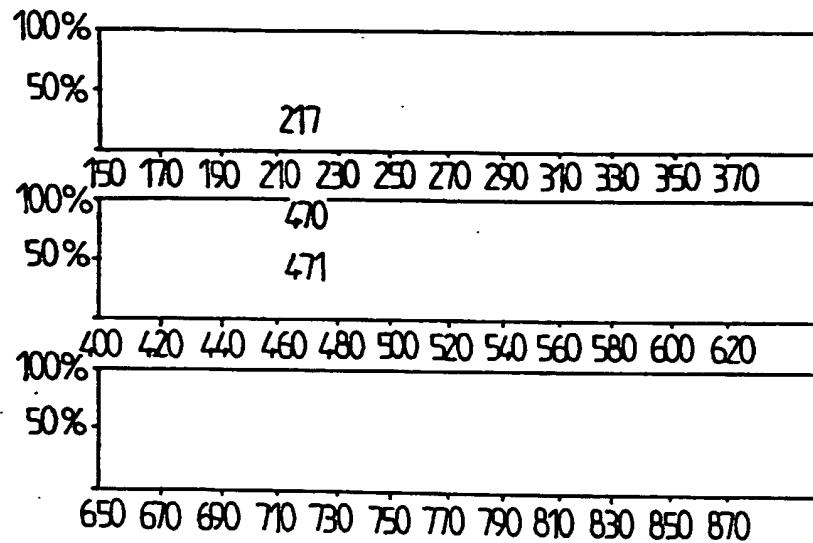


FIG.14A

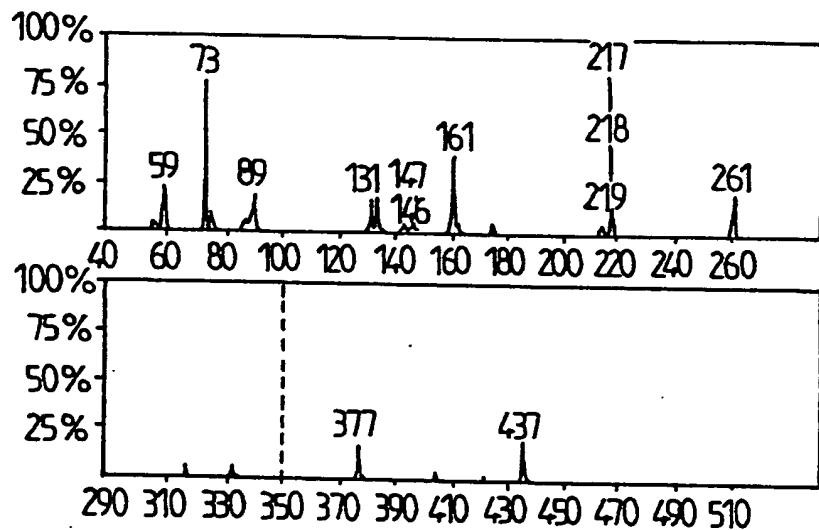


FIG.14B

FEUILLE DE REMPLACEMENT (REGLE 26)

6/8

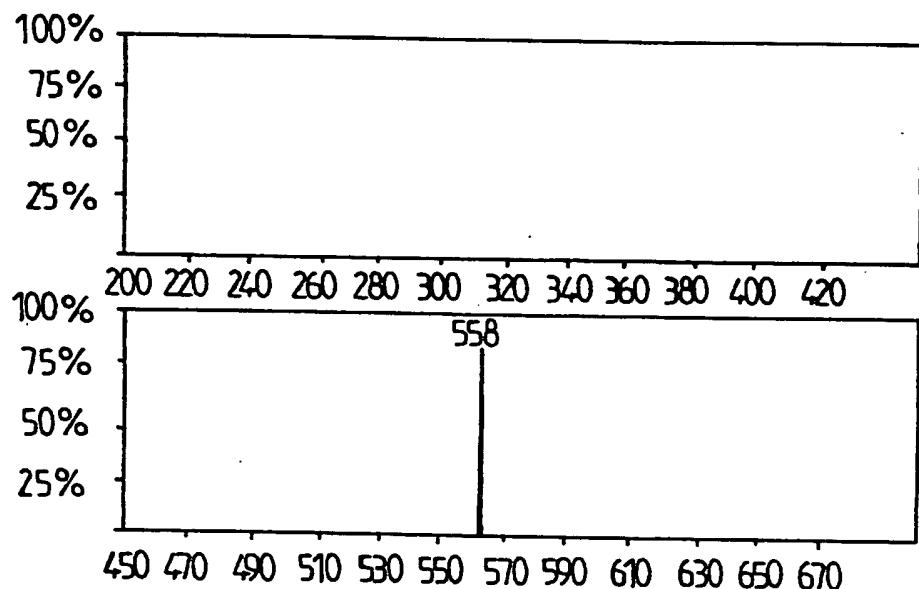


FIG.15A

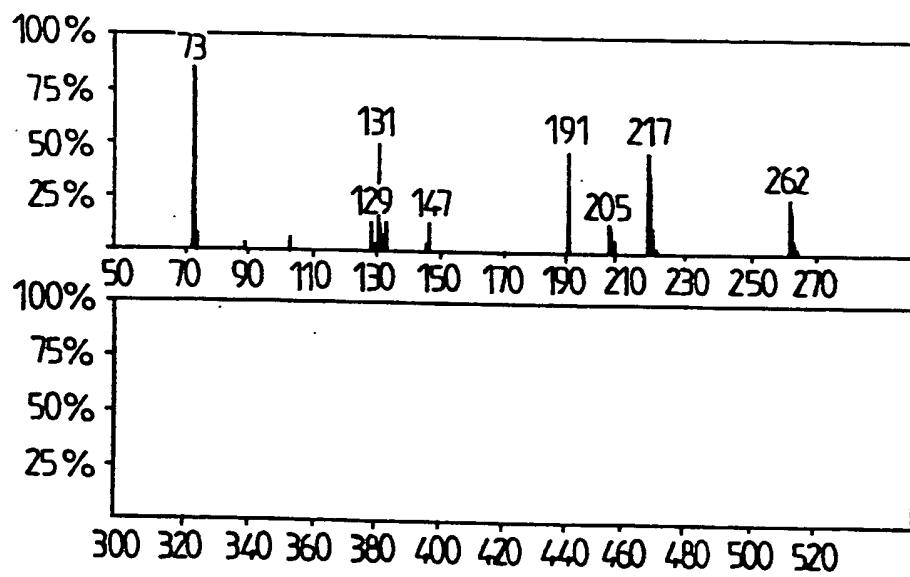


FIG.15 B

FEUILLE DE REMPLACEMENT (REGLE 26)

7/8

FIG. 16 A



100%

50 %

100%

50%

100%

75%

50%

25%

100%

75%

50%

25%

FIG. 16 B

511

101

276

FIG. 16 C

318

347

376

420

8/8

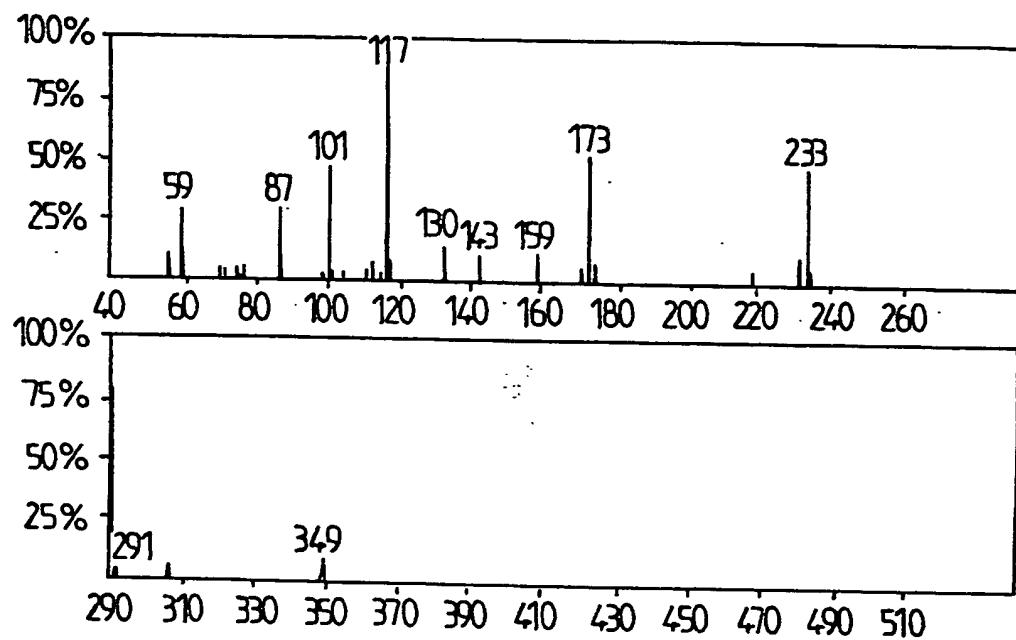


FIG. 17

**RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE**

Demande Internationale No  
PCT/FR 94/00169

**A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE**  
CIB 5 C12P19/04 C12P19/26

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

**B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE**

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)  
CIB 5 C12P

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents reçoivent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés)

**C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS**

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	EP,A,0 084 333 (MICROBIAL CHEMISTRY RESEARCH FOUNDATION) 27 Juillet 1983 voir le document en entier & JP,A,58 121 798 (...) cité dans la demande	1-35,38, 39
A	US,A,4 740 466 (R.M. WEINER ET AL.) 26 Avril 1988 voir colonne 6, ligne 65 - colonne 7, ligne 3 voir colonne 12, ligne 61 - colonne 13, ligne 7 ----	1,16,17, 38,39

Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

\* Catégories spéciales de documents cités:

- "A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- "L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

- "T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
- "X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
- "Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
- "&" document qui fait partie de la même famille de brevets

1

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée	Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale
25 Mai 1994	27-06-1994
Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patenlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Fonctionnaire autorisé  De Kok, A

## RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale No  
PCT/FR 94/00169

## C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	FOOD HYDROCOLLOIDS, vol.5, no.1/2, 1991, NEW YORK US pages 171 - 172 F.TALMONT ET AL. cité dans la demande voir le document en entier	1-3
A	KIELER MEERESFORSCHUNG, SONDERHEFT, vol.8, 1991, KIEL DE pages 188 - 192 P.VINCENT ET AL. cité dans la demande voir le document en entier	1

1

**RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE**

Renseignements relatifs aux auteurs de familles de brevets

Document internationale No

PCT/FR 94/00169

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
EP-A-0084333	27-07-83	JP-C- 1337297 JP-A- 58121798 JP-B- 61000361	11-09-86 20-07-83 08-01-86
JP-A-58121798	20-07-83	JP-C- 1337297 JP-B- 61000361 EP-A,B 0084333	11-09-86 08-01-86 27-07-83
US-A-4740466	26-04-88	CA-A- 1325394 US-A- 5047344	21-12-93 10-09-91

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/FR 94/00169A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
IPC 5 C12P19/04 C12P19/26

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
IPC 5 C12P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	EP,A,0 084 333 (MICROBIAL CHEMISTRY RESEARCH FOUNDATION) 27 July 1983 see the whole document & JP,A,58 121 798 (...) cited in the application ----	1-35, 38, 39
A	US,A,4 740 466 (R.M. WEINER ET AL.) 26 April 1988 see column 6, line 65 - column 7, line 3 see column 12, line 61 - column 13, line 7 ----	1, 16, 17, 38, 39
A	FOOD HYDROCOLLOIDS, vol.5, no.1/2, 1991, NEW YORK US pages 171 - 172 F.TALMONT ET AL. cited in the application see the whole document ----	1-3
-/-		

 Further documents are listed in the continuation of box C. Patent family members are listed in annex.

## \* Special categories of cited documents :

- \*'A' document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- \*'E' earlier document but published on or after the international filing date
- \*'L' document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- \*'O' document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- \*'P' document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

'T' later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

'X' document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

'Y' document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

'&amp;' document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

Date of mailing of the international search report

25 May 1994

27 -06- 1994

## Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentstaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

## Authorized officer

De Kok, A

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/FR 94/00169

## C(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	KIELER MEERESFORSCHUNG, SONDERHEFT, vol.8, 1991, KIEL DE pages 188 - 192 P.VINCENT ET AL. cited in the application see the whole document	1

1

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No.

PCT/FR 94/00169

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)		Publication date
EP-A-0084333	27-07-83	JP-C-	1337297	11-09-86
		JP-A-	58121798	20-07-83
		JP-B-	61000361	08-01-86
JP-A-58121798	20-07-83	JP-C-	1337297	11-09-86
		JP-B-	61000361	08-01-86
		EP-A,B	0084333	27-07-83
US-A-4740466	26-04-88	CA-A-	1325394	21-12-93
		US-A-	5047344	10-09-91